

⑩ 日本国特許庁 (JP)
⑫ 公開特許公報 (A)

⑪ 特許出願公開
昭55-110556

⑤ Int. Cl.³
A 61 L 17/00
C 09 J 3/18

識別記号

庁内整理番号
6617-4C
7016-4J

④ 公開 昭和55年(1980)8月26日
発明の数 3
審査請求 未請求

(全 5 頁)

⑬ 組織接着剤およびその製造方法

⑭ 特 願 昭55-13782
⑮ 出 願 昭55(1980)2月8日
優先権主張 ⑯ 1979年2月15日 ⑰ オーストリア (A T) ⑱ A1189/79
⑲ 発 明 者 オットー・シユヴァルト
オーストリー国ウィーン・チエ
ルテスガツセ5
⑳ 発 明 者 イエンドラ・リンナウ
オーストリー国ウィーン・ラヴ
エンデルヴェーク24
㉑ 発 明 者 フランツ・レーブリツヒ

⑲ 発 明 者 トーマス・ゼーリツヒ
オーストリー国ウィーン・ギム
ナジウムシユトラッセ5/7
㉒ 出 願 人 イムノ・アクチエンゲゼルシャ
フト・フユア・ヒエミツシユ
・メデイツイーニツシエ・プロ
ドウクテ
オーストリー国ウィーン・イン
ドゥストリーシユトラッセ72
㉓ 代 理 人 弁理士 伊藤武久

明 細 書

1. 発明の名称 組織接着剤およびその製造方法
2. 特許請求の範囲
(1) フィブリノーゲンおよび第XII因子を含有する人間のまたは動物の蛋白をベースとする組織接着剤に於て、
(a) 少なくとも33重量部のフィブリノーゲンを含有すること、
(b) 第XII因子とフィブリノーゲンとの割合 (1gのフィブリノーゲン当りの第XII因子の単位数で表わす) が少なくとも80であること、
(c) 蛋白全体中にフィブリノーゲンとアルブミンとが33~90:5~40の割合で含有されていること、
(d) プラスミノゲン-活性剤-抑制剤またはプラスミン-抑制剤、殊にアプロチニンを1gのフィブリノーゲン当り250~25,000のKIEの値で含有していること、
(e) ㉔ 剤がリオフィール化されていること、

を組合せて有することを特徴とする、上記組織接着剤。

- (2) 追加的にグリシンを含有する特許請求の範囲第1項記載の組織接着剤。
(3) 追加的にグルコースまたはサツカロースを含有する特許請求の範囲第1項または第2項記載の組織接着剤。
(4) 1gのフィブリノーゲン当り0.2~200 IEのヘパリンを含有する特許請求の範囲第1~3項のいずれか1つに記載の組織接着剤。
(5) リオフィール化した調剤を溶解した後、定温放置 (incubation) によつて3~5分以内にフィブリノーゲン鎖が完全に架橋しそして2時間の定温放置によつてフィブリノーゲン鎖が少なくとも35%架橋する (SDS-ポリアクリルアミド-ゲル電気泳動法で測定) 特許請求の範囲第1~4項のいずれか1つに記載の組織接着剤。
(6) プラズマ氷点沈降物から、くえん炭ナトリウム、塩化ナトリウム、グリシン、グルコース

せおよびプラスミノゲン-活性剤、抑制剤またはプラスミン-抑制剤およびヘパリンを含む緩衝溶液にて1回または多数回処理することによつて冷間溶解性プラスマ蛋白を抜きそしてその精製された沈殿物を溶解し、人間のアルブミンを添加し、そしてその溶液をリオフィール化することを特徴とする、

- (a) 少なくとも33重量多のフィブリノーゲンを含むこと、
- (b) 第XII因子とフィブリノーゲンとの割合(1gのフィブリノーゲン当りの第XII因子の単位数で表わす)が少なくとも80であること、
- (c) 蛋白全体中にフィブリノーゲンとアルブミンとが33~90:5~40の割合で含有されていること、
- (d) プラスミノゲン-活性剤-抑制剤またはプラスミン-抑制剤、殊にアプロチニンを1gのフィブリノーゲン当り250~25,000のKIEの量で含有していること、

- 3 -

のKIEの量で含有していること、

- (e) 調剤がリオフィール化されていること、を組合せて有することを特徴とする、上記組織接着剤を、人間または動物の組織または器官部分の不適合接合、創傷封じおよび止血並びに創傷治療の促進に使用する方法。
- (8) 接合すべき組織に組織接着剤を適用する以前に、トロンビンと塩化カルシウムとの混合物を該接着剤に添加するか組織上に塗布する特許請求の範囲第7項記載の方法。

5. 発明の詳細な説明

本発明はフィブリノーゲンおよび第XII因子を含む人間のまたは動物の蛋白をベースとする組織接着剤に関する。

久しい以前から、出血の止血の為あるいは創傷を封じる為に血液凝固物質を使用することは公知である。最初のこの種の提起によつてフィブリン-タンボンあるいはフィブリン-薄板が使用された。第二次世界大戦に血漿による組織接着剤が提案された。

- 5 -

- (e) 調剤がリオフィール化されていること、を組合せて有し且つ、フィブリノーゲンおよび第XII因子を含む人間のまたは動物の蛋白をベースとする組織接着剤をプラスマ氷点沈降物から製造する方法。

- (7) フィブリノーゲンおよび第XII因子を含む人間のまたは動物の蛋白をベースとする組織接着剤に於て、
 - (a) 少なくとも33重量多のフィブリノーゲンを含むこと、
 - (b) 第XII因子とフィブリノーゲンとの割合(1gのフィブリノーゲン当りの第XII因子の単位数で表わす)が少なくとも80であること、
 - (c) 蛋白全体中にフィブリノーゲンとアルブミンとが33~90:5~40の割合で含有されていること、
 - (d) プラスミノゲン-活性剤-抑制剤またはプラスミン-抑制剤、殊にアプロチニンを1gのフィブリノーゲン当り250~25,000

- 4 -

最近、H. マトラス (Matras) 等によつて「グイネル・メデイツイニツシエン・グオヘンシュリフト (Wiener Medizinischen Wochenschrift) (1972)、第517頁に、動物実験での不適合下の縫合、管束間神経移植のための、フィブリノーゲンと第XII因子とをベースとする組織接着剤が示されている。

別のある研究はスピングラル (Spängler) 等による「グイネル・クリニシエン・グオヘンシュリフト (Wiener Klinischen Wochenschrift) (1973)、第1~7頁)。この場合も、動物実験にて、氷点沈降物およびトロンビンとしてのフィブリノーゲンによつて組織接着を行ない得ることが提示された。

これら公知の調剤は尚満足し得ないことが判つている。何故ならば、これは組織接着剤に対して出される以下の要求をなお充分には満足していないからである。

- (a) 接着あるいは創傷封じの高度の負担並びに縫合で且つ持続性のある止血、即ち、創傷-あるいは組織表面への接着剤の良好な接着性、並び

- 6 -

BEST AVAILABLE COPY

に接着剤の高い内部の強度、

- (b) 体内での接着の調節可能な持続性、
- (c) 創傷治療経過につれて接着剤を完全に吸収し得ること、
- (d) 創傷治療で要求される性質。

このことは、部分的には、止血に必要とされる各凝固因子が公知の調剤に於ては互に最適な関係で存在していないことに帰因し、そして接着域に於けるフィブリン溶解活性が不十分にしか抑制されていないことも相因している。従々、酵素の作用によつて組織接着の早期溶解が生ずる。

本発明は、これらの欠点や困難を回避することを目的とし、そして人間や動物の根源のリオフィール化された組織接着剤であつて、上記の他の前提条件を満足し、そしてリオフィール化された状態——これは長時間の持続性および改善された速凝性あるいは貯蔵性の為に要求される——で存在する該組織接着剤を製造することを課題としている。

それによつて、本発明は以下の構成要件の組合

- 7 -

サツカロゼを含有していてもよい。これらの成分も尚ほ溶解性を助成する。

組織接着剤は更にヘパリンを、1gのフィブリンノーゲン当り0.2~200 IE 含有していてもよい。これによつて安定化効果が達成される。

本発明に従う組織接着剤は、ラウリル硫酸ナトリウム (SDS) - ポリアクリルアミド-ゲル電気泳動法に従つて測定できる特徴ある架橋性特性を有している。この試験は、組織接着剤と、1ml当り40μMolのCaCl₂および15 NIH-単位〔米国国民衛生協会の単位 (US National Institute of the Health-Einheiten)〕のトロンビンを含有する同じ容量の溶液とを混合した後、該混合物を37℃のもとで定置放置するようにして実施する。架橋度は、反応を停止しそして蛋白中に含有される二硫化物橋の還元的開裂を尿素、ドデシル硫酸ナトリウムおよびβ-メルカプト-エタノールより成る混合物を加えることによつて行なつた後、ゲル電気泳動によつて測定する。3~5分後にフィブリン-A-鎖が完全に架橋し、そして

- 9 -

せにある：

- (a) 少なくとも33重量のフィブリンノーゲンを含有すること、
- (b) 第XII因子とフィブリンノーゲンとの割合 (1gのフィブリンノーゲン当りの第XII因子の単位数で表わす) が少なくとも80であること、
- (c) 蛋白全体中にフィブリンノーゲンとアルブミンとが33~90 : 5~40の割合で含有されていること、
- (d) プラスミノゲン-活性剤-抑制剤またはプラスミン-抑制剤、殊にアプロチニンを、1gのフィブリンノーゲン当り250~25,000のカリクレイン-不活性剤-単位 (KIE) の値で含有していること、
- (e) 調剤がリオフィール化されていること。

有利なある実施形態によれば、組織接着剤が追加的にグリシンを含有しており、それによつてリオフィール化された生成物の再溶解性が改善される。

更に組織接着剤は、追加的にグルコースまたは

- 8 -

2時間後にはフィブリン-α-鎖が少なくとも35%架橋することが、本発明の組織接着剤を特徴付けている。

蛋白全体中のフィブリンノーゲン、アルブミンおよび冷間不溶性グロブリンは、本発明の組織接着剤に於ては特定の割合で存在するべきである。即ち、この割合は33~90 : 5~40 : 0.2~15である。

本発明は更に、プラスマ氷点沈降物から出発して前述の組織接着剤を製造するに当り、該氷点沈降物から、クエン酸ナトリウム、塩化ナトリウム、グリシン、グルコースおよびプラスミノゲン-活性剤-抑制剤またはプラスミン-抑制剤およびヘパリンを含有する緩衝溶液にて1回または多数回処理することによつて冷間溶解性プラスマ蛋白を除きそしてその精製された沈降物を溶解し、人間のアルブミンを添加し、そしてその溶液をリオフィール化することを特徴とする、上記組織接着剤の製造方法も包含している。

-20℃で氷結する人間または動物の新鮮なブラ

- 10 -

BEST AVAILABLE COPY

スマから氷点沈降物を製造するのが有利である。
0~2℃に温度を高めた際に氷点沈降物が得られ
そして遠心分離によつて分離する。沈降物を、6
~8.0のpH-値を有する緩衝溶液にて1回または
多数回抽出処理し、そして冷間溶解性プラスマ蛋
白を除く為に0~4℃にて遠心分離する。緩衝溶
液でのこの処理は、第XII因子とフィブリノーゲ
ンとの所定の割合が達成されるまで行なう。

精製した沈降物を、人間のアルブミン、グリシ
ンおよび重合によつてはグルコースまたはサッガ
ローゼ、プラスミノゲン-活性剤-抑制剤または
プラスミン-抑制剤並びにヘパリンを含有し且つ
6.5~9.0のpH-値を有する別の緩衝溶液にて稀
解し、そして4.0~9.0の蛋白濃度に希釈する。
この溶液を0.2μmまでの孔の大きさの膜通過器に
て通過し、最終的容器中に充填しそしてリオフイ
ール化する。

こうして得られたリオフイール化組織接着剤は
室温または氷に+4℃で貯蔵できる。即ち、この
ものは、プラスミノゲン-活性剤-抑制剤または

プラスミン-抑制剤、殊にアプロチニンが選択的
に添加されていてもよい注射剤含有水(Aqua ad
injectabilia)で再組成した液に直ちに使用でき
る。リオフイール化した調剤を溶解する場合、直
ちに使用可能な溶液が1ml当たり少なくとも70mgの
フィブリノーゲンを含有しているよう注意するべ
きである。

本発明に従う組織接着剤は広汎な用途を有して
いる。このものは、人間または動物の組織-また
は器官部分の不融合接合、創傷治癒および止血並
びに創傷治療の促進に使用できる。

本発明の組織接着剤が有効に使用され得る有利
な用途分野は、顔部-、鼻部-、耳部-および顔
部外科、歯科、神経外科、形成外科、一般的な外
科、腹部外科、胸郭-および血管外科、整形外科、
傷害外科、泌尿器科、眼科および婦人科の分野に
適用することである。

接合すべき組織に本発明の組織接着剤を適用す
る以前に、トロンビンと塩化カルシウムとの混合
物を該接着剤に添加するか組織上に塗布すること

- 11 -

- 12 -

が有利である。

本発明の方法を以下の実施例にて更に詳細に説
明する：

-20℃で氷結した人間の新鮮なプラスマ21Lを
+2℃に加温する。得られた氷点沈降物(435g)
を+2℃のもとで遠心分離によつて分離し、そし
て1L当たり6.6gのNa₂-クエン酸塩・2H₂O、
3.4gのNaCl、10.0gのグリシン、13.0gの
グルコース・H₂O、50,000 KIEのアプロチニ
ンおよび200 IEのヘパリンを含有するpH-値
6.5の4.3Lの緩衝溶液にて+2℃のもとで処理
し、そして再度+2℃のもとで遠心分離する。分
離した沈降物を、1L当たり35.0gの人間のアルブ
ミン、20.0gのグリシン、50,000 KIEのア
プロチニンおよび200 IEのヘパリンを含有するpH-
値7.9の別の緩衝溶液にて溶解しそして1ml当り
70mgの蛋白濃度に希釈する。

次でこの溶液を、0.2μmまでの孔の大きさの膜
通過器にて無菌的に通過しそしてリオフイール化
する。リオフイール化した生成物を90mg/mlのフ

イブリノーゲン濃度に再組成した液に、即ち使用
可能な組織接着剤調剤は架橋試験に於て37℃のも
とで5分以内にフィブリン-γの完全な架橋をそし
て2時間後にフィブリン-αの66%の架橋を示し
た。

組織接着剤中に含まれる各蛋白、即ちフィブリ
ノーゲンとアルブミンと冷間不溶性グロブリンと
の割合は64.0 : 22.3 : 7.7であることが確かめ
られた。ヘパリン含有量は1gのフィブリノーゲ
ン当り4.5IEであつた。アプロチニンは1gのフ
イブリノーゲン当り1133 KIEの濃度で含まれて
いた。第XII因子の含有量は1gのフィブリノー
ゲン当り161単位であつた。リオフイール化され
た調剤中の蛋白全含有量は72.2%であり、リオ
フイール化された調剤中のフィブリノーゲン含有
量は46.2%であつた。

この調剤は以下の様に行なう：第XII因子単位
数の測定を、第XII因子不含のフィブリノーゲン
を基材として使用しそして未知の希釈された試料
を添加することによつて実現するフィブリン架橋

- 13 -

- 14 -

BEST AVAILABLE COPY

を該試料中に含まれる第 XII 因子の量の目安として使用する浸漬試験によつて行なう。相応する校正曲線はブールした人間のくえん酸塩プラズマを用いて得られる。その際、測定された 1 ml のプラズマ当り 1 単位の第 XII 因子を含有している。蛋白の定量的測定はクジエルダール (Kjeldahl) による方法によつて行なう。

蛋白相互間の測定は同様に SDS- ポリアクリルアミド-ゲル電気泳動法に従つて、しかも (a) 還元されていない組織接着剤試料および (b) β -メルカプトエタノールで還元された該試料にて実施した。

本発明の実施の態様として以下のものがある。

蛋白全体中のフィブリノーゲンとアルミニウムと冷間不溶性グロブリンの割合が 33 ~ 90 : 5 ~ 40 : 0.2 ~ 15 であることを特徴とする特許請求の範囲第 1 ~ 5 項のいずれか 1 つに記載の組織接着剤。

代理人 弁護士 伊 藤 武 久 武 久 勝

BEST AVAILABLE COPY